

PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number : 2000-239175

(43)Date of publication of application : 05.09.2000

(51)Int.Cl.

A61K 35/20
A23C 21/02
A61P 37/08
// A23L 1/30

(21)Application number : 11-039507

(71)Applicant : CALPIS CO LTD

(22)Date of filing : 18.02.1999

(72)Inventor : YOKOGOSHI HIDEHIKO
MAENO MASABUMI
ISHIDA MASARU**(54) ANTIALLERGIC AGENT****(57)Abstract:**

PROBLEM TO BE SOLVED: To obtain an antiallergic agent derived from a natural product, free from adverse effects, having high safety and capable of using for medicines, specific foods for health cares and foods and beverage such as health foods.

SOLUTION: This antiallergic agent comprises an acid milk whey and the antiallergic agent is especially effective against immediate allergy or delayed type allergy, and is orally and/or percutaneously administered. Fermented milk obtained by fermenting a fermentation raw material by using bacteria for fermentation including various kinds of lactic acid bacteria, or the like, can be used as the acid milk. Particularly, e.g. *Lactobacillus helveticus* can be used as the lactic acid bacterium. Fermentation can be carried out by subjecting the above lactic acid bacterium to mixed culture with other lactic acid bacterium species or subjecting the above lactic acid bacterium to cocultivation with a yeast.

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開2000-239175

(P 2 0 0 0 - 2 3 9 1 7 5 A)

(43) 公開日 平成12年9月5日(2000.9.5)

(51) Int. Cl. ⁷	識別記号	F I	テ-マ-ド (参考)
A61K 35/20		A61K 35/20	4B001
A23C 21/02		A23C 21/02	4B018
A61P 37/08		A61K 31/00	637 E 4C087
// A23L 1/30		A23L 1/30	A

審査請求 未請求 請求項の数 3 O L (全 7 頁)

(21) 出願番号 特願平11-39507

(22) 出願日 平成11年2月18日(1999.2.18)

特許法第30条第1項適用申請有り 1998年10月3日 社
団法人日本農芸化学会主催の「日本農芸化学会中部支部
第124回例会」において文書をもって発表

(71) 出願人 000104353

カルビス株式会社

東京都渋谷区恵比寿西2丁目20番3号

(72) 発明者 横越 英彦

静岡県清水市川原町21番地11号

(72) 発明者 前野 正文

神奈川県相模原市淵野辺5-11-10 カル
ビス株式会社基盤技術研究所内

(72) 発明者 石田 優

神奈川県相模原市淵野辺5-11-10 カル
ビス株式会社基盤技術研究所内

(74) 代理人 100081514

弁理士 酒井 一

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 抗アレルギー剤

(57) 【要約】

【課題】 天然物由来で副作用がなく安全性が高く、医薬
品及び特定保健用食品、健康食品等の飲食品に用いるこ
とができる抗アレルギー剤を提供する。

【解決手段】 酸乳ホエーを含むことを特徴とする抗アレ
ルギー剤、特に即時型アレルギー又は遅延型アレルギー
に有効で、経口的及び／又は経皮的に投与される前記抗
アレルギー剤。

【特許請求の範囲】

【請求項1】 酸乳ホエーを含むことを特徴とする抗アレルギー剤。

【請求項2】 即時型アレルギー又は遅延型アレルギーに有効である請求項1記載の抗アレルギー剤。

【請求項3】 経口的及び／又は経皮的に投与される請求項1又は2記載の抗アレルギー剤。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【産業上の利用分野】本発明は、アレルギー性鼻炎及び10 アトピー性皮膚炎等の炎症等に対して有効な、医薬品、特定保健用食品、健康食品等として用い得る抗アレルギー剤に関する。

【0002】

【従来の技術】近年、加工食品を多用した食生活及び化学物質へ接する機会の増加等による生活環境の変化により、アレルギー性疾患の患者数が増加している。なかでも花粉症とアトピー性皮膚炎の増加は著しいものがあり、社会問題になっている。

【0003】アレルギー反応は、そのメカニズムの違いによりI型からIV型の4つの型に分けられている。その中でアレルギー性鼻炎、気管支喘息及び蕁麻疹などのアレルギー疾患は、通常I型アレルギー反応により起こる。I型アレルギー反応は、即時型アレルギーとも呼ばれており、組織内の肥満細胞や血中好塩基球表面のFcεレセプターにアレルギー特異的IgE抗体が結合し、次いでアレルギーがIgE抗体に結合することで、肥満細胞や好塩基球から過剰にヒスタミンやロイコトリエン等のケミカルメディエーターが放出され、様々なアレルギー反応が励起される生体反応である。従って、I型アレルギー疾患の治療には、抗ヒスタミン剤と肥満細胞からのケミカルメディエーターの遊離抑制作用を有する抗アレルギー剤が用いられている。しかし、このような抗ヒスタミン剤や抗アレルギー剤には、副作用が認められる場合が多くあり、長期にわたって連用するには安全性が問題となる。

【0004】また、アレルギー性接触皮膚炎等の疾患は、通常遅延型アレルギーとも呼ばれるIV型アレルギー反応により起こる。IV型アレルギー性疾患の治療にはステロイド剤が用いられる。ステロイド剤は、サイトカインの産生を抑制し、湿疹の治療には特に有効である。しかし、大量もしくは長期間使用する場合は重篤な副作用を引き起こす可能性が高く、安全性が問題となっている。

【0005】一方、これらの安全性が問題となる抗アレルギー剤の投与に代えて、一般食品のうちの抗アレルギー効果を示すものを多く摂食することにより、アレルギー疾患を改善することも試みられている。抗アレルギー効果を示す一般食品としては、シソエキス、甜茶エキス等が知られており、これらを添加したアレルギー低減食

品の市場が拡大傾向にある。しかし、これらは根本的なアレルギー体質改善に効果的なものではない。また、乳酸菌菌体がin vitroにおいてIgE産生抑制作用及び抗アレルギー作用を示すことが知られている（特開平9-2959号公報）が、未だ抗アレルギー剤としては実用化に至っていない。

【0006】従って、副作用がなく安全性が高く毎日食することができ、且つ有効な抗アレルギー作用を兼ね備えた食品が待望されている。

【0007】

【発明が解決しようとする課題】本発明の目的は、天然物由来で副作用がなく安全性が高く、医薬品及び特定保健用食品、健康食品等の飲食品に用いることができる抗アレルギー剤を提供することにある。

【0008】

【課題を解決するための手段】本発明によれば、酸乳ホエーを含むことを特徴とする抗アレルギー剤が提供される。

【0009】また、本発明によれば、即時型アレルギー又は遅延型アレルギーに有効である前記抗アレルギー剤が提供される。

【0010】さらに、本発明によれば、経口的及び／又は経皮的に投与される前記抗アレルギー剤が提供される。

【0011】

【発明の実施の形態】本発明の抗アレルギー剤は、酸乳ホエーを含む。

【0012】前記酸乳としては、各種の乳酸菌等を含む発酵用の菌を用いて発酵原料を発酵させて得た発酵乳を用いることができる。前記乳酸菌としては、具体的には、例えばラクトバチルス・ヘルベティカスを用いることができる。また、これと他の乳酸菌種とを混合培養して、若しくは酵母と共生培養して発酵を行うこともできる。

【0013】前記ラクトバチルス・ヘルベティカスとしては、具体的には、例えばラクトバチルス・ヘルベティカスJCM1003、JCM1006、JCM1062、ATCC15009、ATCC12046、ATCC8001、ATCC10797、ATCC12046等の菌株を用いることができる。特にJCM1003株が好ましい。

【0014】前記発酵原料としては、獣乳及び植物性乳が挙げられる。前記獣乳としては、全脂乳、脱脂乳、ホエー、粉乳及び還元乳等が挙げられ、前記植物性乳としては、大豆等の由来のものが挙げられる。前記発酵原料としては、さらに副次的成分として、必要に応じて酵母エキス、ビタミン類、アミノ酸、塩類、糖類（グルコース、シュクロース又はラフィノース、スタキオース等のオリゴ糖類等）、安定剤等が適宜添加されたものを用いることができる。

【0015】前記発酵原料の発酵は、例えば以下のように行うことができる。前記発酵原料を加熱殺菌し、冷却後、予めラクトバチルス・ヘルペティカス等の発酵用の前記菌を前培養して調製したスターターを添加する。前記スターターの添加量は培地に対して菌数として 10^5 個/mlから 10^7 個/mlとすることができる。発酵温度は $25\sim 50^\circ\text{C}$ 、好ましくは $30\sim 45^\circ\text{C}$ 、培養時間は $3\sim 48$ 時間、好ましくは $8\sim 24$ 時間の範囲で行うことができる。乳酸菌数が 10^5 個/ml以上、pH 4.0以下になった時点で発酵を停止し、前記発酵乳を得ることができる。

【0016】得られた発酵乳を、乳酸菌が生存したまま、又は 80°C 達温等の条件で加温する等の方法で殺菌した後、遠心分離操作等に供することにより、酸凝固したカゼイン蛋白質が除去された酸乳ホエーを分離された状態で得、本発明の抗アレルギー剤の成分として用いることができる。又は、得られた発酵乳を、分離せずにそのまま、酸乳ホエーを含む材料として、本発明の抗アレルギー剤の成分として用いることもできる。さらに、これら酸乳ホエー又は酸乳ホエーを含む材料を、減圧濃縮等による濃縮、又は凍結乾燥、噴霧乾燥等の方法による乾燥等によりスラリー状又は粉末状の処理物とし、本発明の抗アレルギー剤の成分として用いることもできる。

【0017】本発明の抗アレルギー剤は、前記酸乳ホエー、前記発酵乳、前記処理物、又はこれらの混合物のみから構成することができるが、これらと他の添加材料との混合物として構成することもできる。具体的には例えば、1種以上の増量剤を含むことができる。また、糖質、タンパク質、脂質、ビタミン、ミネラル、色素、フレーバー等の食品原料及び/又は食品添加物を含むことができる。本発明の抗アレルギー剤中の酸乳ホエーの配合割合は適宜選択することができるが、通常 $5\sim 100$ 重量%の範囲が適当である。

【0018】本発明の抗アレルギー剤の形態は、ヨーグルト、チーズ、及び乳酸菌飲料等の発酵乳製品、発酵乳配合加工食品、カプセル剤、顆粒剤、錠剤等のいずれでも良く、経口的に投与できる。また、エタノール溶液等の剤形として、皮膚表面の塗布等により経皮的に投与することもでき、さらにこれらの投与方法を組み合わせ投与することもできる。

【0019】本発明の抗アレルギー剤の投与量は、患者

の年齢、症状により適宜調節することができるが、酸乳ホエー固形分量に換算して、例えば経口投与の場合、 $0.1\text{g}/\text{体重kg}\cdot\text{日}$ 以上、好ましくは $10\text{g}/\text{体重kg}\cdot\text{日}$ 以上とすることにより、本発明の効果を得ることができる。

【0020】

【発明の効果】本発明の抗アレルギー剤は、天然食品由来のものであり副作用がなく安全性が高く、栄養価も高く、おいしさを兼ね備えており、アレルギー反応に由来する炎症、アレルギー性鼻炎及びアトピー性皮膚炎等のアレルギー疾患症状を改善・抑制又は予防することができる、医薬品及び特定保健用食品、健康食品等の飲食品に用いることができる抗アレルギー剤として有用である。

【0021】

【実施例】以下実施例により更に詳細に説明するが、本発明は、これらに限定されるものではない。

【0022】酸乳ホエーが持つ抗アレルギー作用を調べた。

【0023】

【実施例1】実験動物にはICR系マウスを用い、オボアルブミン(ovalbumin, OA)を抗原とした能動腹部アナフィラキシー(Active Abdominal Anaphylaxis, 以下AAAという。)試験を行い、酸乳ホエーが持つ即時型アレルギー抑制作用を評価した。

【0024】(試料等の調製)

・試験飼料の調製方法： 90°C 達温殺菌した脱脂乳(固形分9重量%)1kgにラクトバチルス・ヘルペティカスJCM1003株とサッカロマイセス・セレビジエATCC2565とを予め前培養した共生スターター発酵液40gを接種し、 37°C 、24時間培養し酸乳を得た。この酸乳7000gを10分間遠心分離して固形分を除去して得られた上清分(ホエー)902gを凍結乾燥して酸乳ホエー粉末60.5gを調製した。上記ホエー粉末を用い、表1に示した組成を有する10重量%酸乳ホエー食を作製した。

【0025】また、コントロール群に投与するための飼料として、表1に示した酸乳ホエーを含まないコントロール食を作製した。

【0026】

40 【表1】

コントロール食群	酸乳ホエー食群
20重量% カゼイン	18重量% カゼイン
80重量% 基礎飼料	72重量% 基礎飼料
	10重量% 酸乳ホエー粉末

【0027】・アレルギー原液の調製：アレルギー原として、オボアルブミン(Chicken egg; grade V, SIGMA CHEMICAL CO. (米国) 製)を滅菌生理食塩水に $2.0\text{mg}/\text{ml}$ の濃度で溶解し、 $0.45\mu\text{m}$ の滅菌済みフィルター(東洋濾紙株式会社製)で濾過し、アレルギー原液と

した。

・感作用アレルギーエマルジョンの調製：上記アレルギー原液とフロイント不完全アジュバント(DIFCO LABORATORIES (米国) 製)を1:1の体積比で混合して乳化させ、感作用アレルギーエマルジョンとした。

50

・誘発用アレルゲン溶液：上記アレルゲン原液を滅菌生理食塩水で20倍に希釈して、誘発用アレルゲン溶液とした。

・エバンスブルー溶液：エバンスブルー（和光純薬株式会社製）を終濃度1重量%又は0.5重量%になるように、それぞれ滅菌生理食塩水に溶解し、濾紙で濾過した。濾液をさらに0.2 μ mの滅菌フィルター（東洋濾紙株式会社製）で濾過した。

【0028】（即時型アレルギー抑制作用の評価）雄ICR系5週齢マウス（n=5匹、2群；日本S L C株式会社）を用いた。予備飼育期間中は、固形飼料（CE-2；日本クレア株式会社製）及び水を自由摂取させた。3日間の予備飼育後、一群のマウス下腹部の腹腔内に、前記感作用アレルゲンエマルジョンを一匹当たり50 μ l注射し、オボアルブミン感作を行なった。感作後は、前記酸乳ホエー食及び水を自由摂取させた。対照として、他の群のマウスを、前記酸乳ホエー食の代わりにコントロール食を与えた他は同様に処理した。以下、酸乳ホエー食を与えた群をサンプル食群、コントロール食を与えた群をコントロール食群という。

【0029】オボアルブミン感作後に試験飼料をそれぞれ12日間自由摂食させた後、各群のマウスの尾静脈に前記1重量%エバンスブルー溶液を一匹当たり100 μ l注射した。次いでエーテル麻酔を行い速やかに腹部の皮膚を剥離し腹壁を露出させ、エバンスブルー溶液の投与から6分後に、腹壁内に前記誘発用アレルゲン溶液50 μ lを注射した。腹壁内注射から正確に7分後にマウスを頸椎脱臼により屠殺し、色素溢出部位を含んだ腹壁を切り取った。切除した腹壁を透明なシャーレに貼付して、色素溢出部位の長径と短径を計測し、面積を計算した。各群の実験結果の平均値及び標準誤差を求め、Studentのt-検定により群間の有意差検定を行った。結果を図1に示す。図1から明らかなように、コントロール食群と比較して、サンプル食群では有意に色素の溢出が抑えられた。すなわちアレルゲンとして用いた

オボアルブミンに対する特異的IgE抗体の産生が抑制されていた。

【0030】

【実施例2】オボアルブミンを抗原とした受動皮膚アナフィラキシー（Passive Cutaneous Anaphylaxis、以下PCAという。）試験を行い、酸乳ホエーが持つ即時型アレルギー抑制作用を評価した。

【0031】実施例1と同様に操作し、2群のマウス（n=5匹）をオボアルブミンで感作させ、酸乳ホエー食又はコントロール食と水とを自由摂取させた。12日間の自由摂取期間終了後、マウスから、血液をガラス毛细管（テルモ株式会社製）を用いて眼窩静脈叢採血法にて採取し、既知の方法でマウス血清を得た。

【0032】9週齢の雌Sprague-Dowley（SD）ラット各群10匹（日本S L C株式会社）を麻酔した後、電気バリカンで背中の毛を注意深く刈った。上記のマウス血清を様々な希釈率で希釈した液0.1mlを、ラットの毛を刈った部位の皮内に注射した。24時間放置後、オボアルブミン（Chicken egg; grade V, SIGMA CHEMICAL CO.（米国）製）を滅菌生理食塩水に10.0mg/mlの濃度で溶解し、0.45 μ mの滅菌済みフィルター（東洋濾紙株式会社製）で濾過したPCA用アレルゲン溶液0.3mlと前記0.5%重量エバンスブルー溶液2.7mlとの混合溶液1mlを、ラットの尾静脈から注入し、注入30分後にラットを屠殺した。ラットの背部皮膚を剥離して皮膚内面の青染円の長径及び短径を測定し、平均直径及び面積を計算した。平均直径5mm以上を陽性とし、サンプル食群及びコントロール食群のそれぞれの、各希釈率における陽性、陰性の別を判定した。結果を表2に示す。また、希釈率1/4の実験における青染円の面積について、各群の平均値及び標準誤差を求め、Studentのt-検定により群間の有意差検定を行った。結果を図2に示す。

【0033】

【表2】

	マウス血清の希釈率				
	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32
コントロール食群	+	+	+	+	+
酸乳ホエー食群	+	+	-	-	-

＋：陽性（直径5mm以上）

－：陰性（直径5mm未満）

【0034】図2から明らかなように、コントロール食群と比較して、サンプル食群では有意に色素の溢出が抑えられた。すなわちアレルゲンとして用いたオボアルブミンに対する特異的IgE抗体の産生が抑制されていた。

【0035】

【実施例3】IV型アレルギーに対する酸乳ホエーの抑制作用

雌ICR系6週齢マウス（n=5匹、2群；日本S L C

株式会社）を用いた。これらのマウスに、固形飼料（CE-2）及び水を自由摂取させ、3日間予備飼育した。予備飼育期間後、3重量%オキサゾロンを含むエタノール溶液を腹部に150 μ l塗布し、同時に試験飼料の摂食を開始した。試験飼料は実施例1と同様のサンプル食又はコントロール食を各群に用い、試験飼料と水とは自由摂取とした。感作7日後に1重量%オキサゾロンを含むエタノール溶液をマウス耳介に塗布し、耳介接触性皮膚炎を起こさせた。塗布24、48及び72時間後の耳

介の厚さをダイヤルシックスゲージ(RI-A, Ozaki MF G, Tokyo, Japan)にて測定し、予め皮膚炎誘発前に測定していた耳介厚との差を求めた。サンプル食群及びコントロール食群のそれぞれの測定結果の平均値及び標準誤差を求め、Studentのt-検定により群間の有意差検定を行った。結果を図3に示す。

【0036】図3から明らかなように、コントロール食群と比較して、サンプル食群ではオキサゾロンによる耳介浮腫が有意に抑えられた。すなわちIV型アレルギーに対する抑制作用が確認された。

【0037】

【実施例4】 酸乳ホエー塗布によるIV型アレルギー抑制作用

遅延型アレルギーについて、酸乳ホエーなどのエタノール溶液をアレルギー誘発前に予め耳介に塗り、塗布による抗アレルギー作用を調べた。

【0038】実施例3で用いたものと同種・同週令のマウス2群を用いた。これらのマウスに、固形飼料(CE-2)及び水を自由摂取させ、3日間予備飼育した。予備飼育期間後、3重量%オキサゾロンを含むエタノール溶液を腹部に150 μ l塗布し感作させた。感作から7日後、25容量%エタノール水溶液を一群のマウスのそれぞれの耳介表裏に10 μ lづつ塗布してコントロール塗布群とし、一方実施例1で得た酸乳ホエー粉末を5重量%含む25容量%エタノール溶液を他の一群のマウスに同様に塗布してサンプル塗布群とした。これらの塗布から10分後に、1重量%オキサゾロンを含むエタノール水溶液をマウス耳介表裏に10 μ lづつ塗布し、耳介

接触性皮膚炎を起こさせた。この塗布から24、48及び72時間後の耳介の厚さをダイヤルシックスゲージ(RI-A, Ozaki MFG, Tokyo, Japan)にて測定し、予め皮膚炎誘発前に測定していた耳介厚との差を求めた。サンプル塗布群及びコントロール塗布群のそれぞれの測定結果の平均値及び標準誤差を求め、Studentのt-検定により群間の有意差検定を行った。結果を図4に示す。

【0039】図4から明らかなように、コントロール塗布群と比較して、サンプル塗布群ではオキサゾロンによる耳介浮腫が有意に抑えられた。すなわちIV型アレルギーに対する抑制作用が確認された。

【図面の簡単な説明】

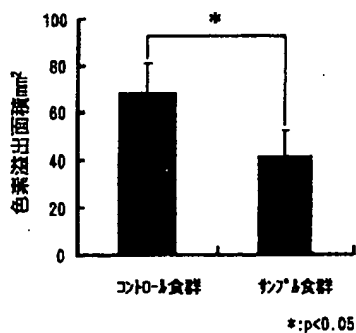
【図1】図1は、実施例1で、酸乳ホエー食を摂取したサンプル食群マウス及びコントロール食群マウスについてのオボアルブミンによるAAA反応試験における、特異的抗原の産生の差を示すグラフである。

【図2】図2は、実施例2で、酸乳ホエー食を摂取したサンプル食群マウス及びコントロール食群マウスについてのオボアルブミンによるPCA反応試験における、特異的抗原の産生の差を示すグラフである。

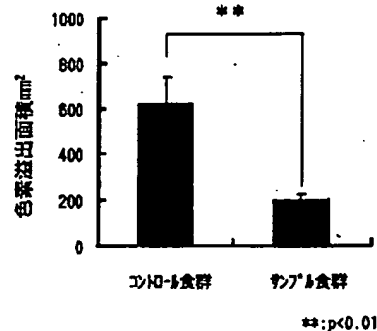
【図3】図3は、実施例3で、酸乳ホエー食を摂取したサンプル食群マウス及びコントロール食群マウスにおける、オキサゾロンによる耳介接触性皮膚炎の程度の差を示すグラフである。

【図4】図4は、実施例4で、サンプル塗布群マウス及びコントロール塗布群マウスにおける、オキサゾロンによる耳介接触性皮膚炎の程度の差を示すグラフである。

【図1】

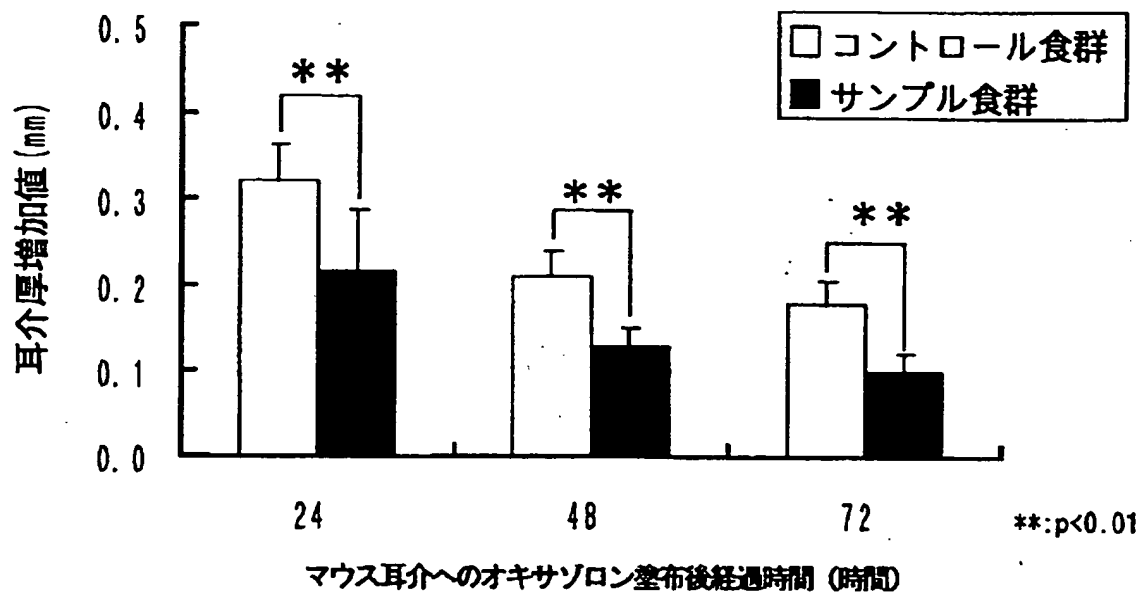


【図2】

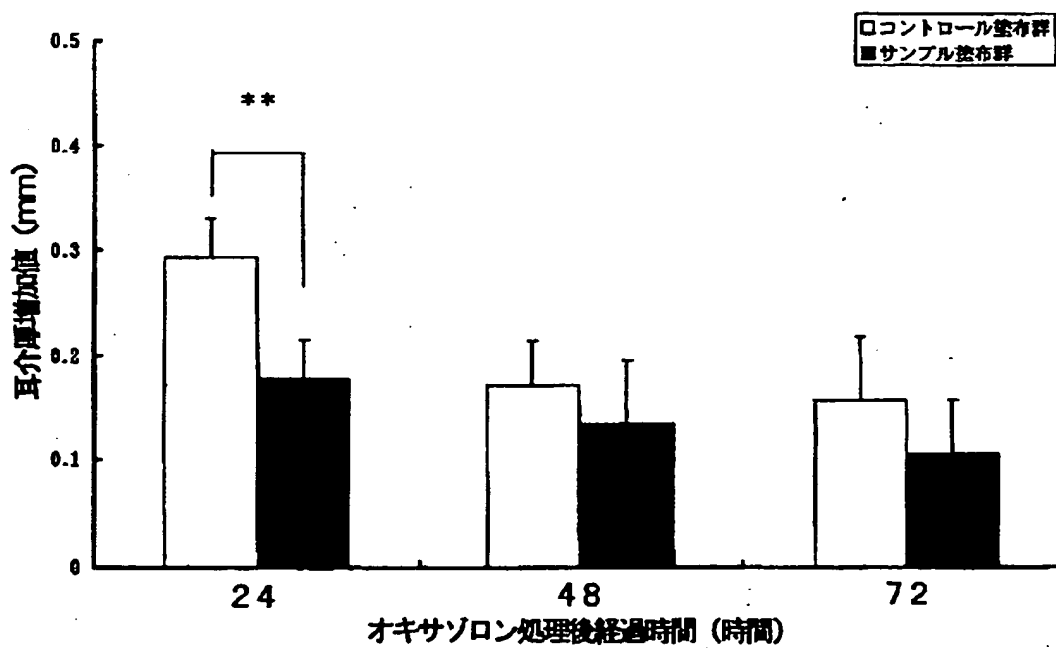


BEST AVAILABLE COPY

【図3】



【図4】



BEST AVAILABLE COPY

フロントページの続き

Fターム(参考) 4B001 AC06 AC31 AC32 BC14 EC05
4B018 LB07 LE01 LE02 LE03 LE04
MD81 MD86 MD91 ME07 MF13
4C087 AA01 AA02 BB39 CA07 MA01
MA52 MA55 NA14 ZB13